

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN
EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad
Intelectual
Oficina internacional



(43) Fecha de publicación internacional
14 de Febrero de 2002 (14.02.2002)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 02/12167 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes:
C07C 233/21, 69/587, A61K 31/232, 31/165

(21) Número de la solicitud internacional: PCT/ES01/00305

(22) Fecha de presentación internacional:
27 de Julio de 2001 (27.07.2001)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:
P 200001920 28 de Julio de 2000 (28.07.2000) ES
P 200101769 27 de Julio de 2001 (27.07.2001) ES

(71) Solicitante (para todos los Estados designados salvo
US): UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
[ES/ES]; Rectorado, Avenida de Séneca, 2, E-28040
Madrid (ES).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (para US solamente): LOPEZ
RODRIGUEZ, Maria Luz [ES/ES]; Departamento de
Química Orgánica I, Facultad Ciencias Químicas, E-28040
Madrid (ES). VISO BERONDA, Alma [ES/ES]; Departa-
mento de Química Orgánica I, Facultad Ciencias Químicas,

E-28040 Madrid (ES). ORTEGA GUTIERREZ, Silvia
[ES/ES]; Departamento de Química Orgánica I, Facultad
Ciencias Químicas, E-28040 Madrid (ES). LASTRES
BECKER, Isabel [ES/ES]; Departamento de Química
Orgánica I, Facultad Ciencias Químicas, E-28040 Madrid
(ES). GONZALEZ RODRIGUEZ DE CASTRO, Sara
[ES/ES]; Departamento de Química Orgánica I, Facultad
Ciencias Químicas, E-28040 Madrid (ES). FERNANDEZ
RUIZ, Javier, J. [ES/ES]; Departamento de Química
Orgánica I, Facultad Ciencias Químicas, E-28040 Madrid
(ES). RAMOS ATANCE, Jose Antonio [ES/ES]; De-
partamento de Química Orgánica I, Facultad Ciencias
Químicas, E-28040 Madrid (ES).

(81) Estados designados (nacional): AU, CA, US.

(84) Estados designados (regional): patente europea (AT, BE,
CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,
NL, PT, SE, TR).

Publicada:

— con informe de búsqueda internacional

Para códigos de dos letras y otras abreviaturas, véase la sección
"Guidance Notes on Codes and Abbreviations" que aparece al
principio de cada número regular de la Gaceta del PCT.

(54) Title: NOVEL ARAQUIDONIC ACID DERIVATIVES WITH AFFINITY TOWARD THE ANANDAMIDE TRANSPORTER

(54) Título: DERIVADOS DE ACIDO ARAQUIDONICO CON AFINIDAD POR EL TRANSPORTADOR DE ANANDAMIDA

(57) Abstract: The invention relates to compounds derived from araquidonic acid of general formula (I), their stereoisomers and mixtures and their pharmaceutically acceptable salts and solvates. The invention also relates to a method for preparing the above-mentioned compounds, pharmacological characterization and therapeutic applications, wherein X represents CO, CS or CH₂; Y represents CH₂, O, S, NH or NR (R represents alkyl, alkylaryl or aryl); Z represents H or an alkyl, alkylaryl or aryl group; Heterocycle represents an aromatic monocyclic subunit or an aliphatic monocyclic subunit consisting of one or two heteroatoms and methylenic units or the benzofused derivatives of both subunits.

(57) Resumen: La presente invención se refiere a los compuestos derivados de ácido araquidónico de fórmula general (I), así como a sus estereoisómeros y sus mezclas, y las sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de todos ellos. También se describe un procedimiento para la preparación de los compuestos mencionados, la caracterización farmacológica y las aplicaciones terapéuticas. En donde: X representa CO, CS o CH₂; Y representa CH₂, O, S, NH, o NR (R representa alquilo, alquilarilo o arilo), Z representa H o un grupo alquilo, alquilarilo o arilo. Heterociclo representa una subunidad monocíclica aromática o una subunidad monocíclica alifática constituida por uno o dos heteroátomos y unidades metilénicas o los derivados benzofusionados de ambas subunidades.

WO 02/12167 A1

TITULO**DERIVADOS DE ÁCIDO ARAQUIDÓNICO CON AFINIDAD POR EL
TRANSPORTADOR DE ANANDAMIDA**

5 La presente invención se refiere a productos derivados de ácido araquidónico con afinidad por el transportador de anandamida.

ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR

10 El cannabis se encuentra entre las drogas de abuso de consumo más extendido en el mundo. Sin embargo, sus principios activos y análogos sintéticos están siendo ahora considerados por su potencial terapéutico, debido a la reciente descripción en el organismo animal de un sistema cannabinoide endógeno (Pertwee, R. G. *Pharmacol. Ther.* **1997**, 74, 129).

15 Este sistema está formado por al menos dos tipos de receptores acoplados a proteínas que unen GTP, llamados CB₁ (presente principalmente en el sistema nervioso central) y CB₂ (presente principalmente en el sistema inmune) (Howlett, A. C. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **1995**, 35, 607; Pertwee, R. G. *Pharmacol. Ther.* **1997**, 74, 129), y por los ligandos

20 endógenos que activan estos receptores (Martin, B. R.; Mechoulam, R.; Razdan, R. K. *Life Sci.* **1999**, 65, 573). Estos ligandos, llamados endocannabinoides, son principalmente derivados del ácido araquidónico como la araquidoniletanolamida (AEA), el 2-araquidonilglicerol (Martin, B.R.; Mechoulam, R.; Razdan, R.K. *Life Sci.* **1999**, 65, 573) y el araquidil 2-gliceril

25 éter (Hanuš, L.; Abu-Lafi, S.; Friede, E.; Brever, A.; Vogel, Z.; Shalev, D. E.; Kustanovich, I.; Mechoulam, R. *P. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, 98, 3662).

El sistema endocannabinoide parece jugar un papel modulador en diferentes procesos fisiológicos, principalmente en el cerebro (Di Marzo, V.; Melck, D.; Bisogno, T.; De Petrocellis, L. *Trends Neurosci.* **1998**, 21, 521;

30 Fernández-Ruiz, J.; Berrendero, F.; Hernández, M. L.; Ramos, J. A. *Trends Neurosci.* **2000**, 23, 14), aunque también en los sistemas inmune (Parolaro, D. *Life Sci.* **1999**, 65, 637) y cardiovascular (Wagner, J. A.; Varga, K.; Kunos,

G. J. *Mol. Med.* **1998**, 76, 824). En el cerebro, los endocannabinoides participan en la regulación de la actividad motora, de la nocicepción, de la comunicación neuronal, del apetito así como de los procesos de aprendizaje y memoria (Di Marzo, V.; Melck, D.; Bisogno, T.; De Petrocellis, L. *Trends Neurosci.* **1998**, 21, 521; Sañudo-Peña, M. C.; Tsou, K.; Walker, J. M. *Life Sci.* **1999**, 65, 703; Wilson, R. I.; Nicoll, R. A. *Nature* **2001**, 410, 588; Di Marzo, V.; Goparaju, S. K.; Wang, L.; Liu, J.; Bátkai, S.; Járαι, Z.; Fezza, F.; Miura, G. I.; Palmiter, R. D.; Sugiura, T.; Kunos, G. *Nature* **2001**, 410, 822; Hampson, R. E.; Deadwyler, S. A. *Life Sci.* **1999**, 65, 715), y en el desarrollo cerebral (Fernández-Ruiz, J.; Berrendero, F.; Hernández, M. L.; Ramos, J. A. *Trends Neurosci.* **2000**, 23, 14). Esto se ha demostrado a partir del estudio de la distribución de los receptores CB₁ en el cerebro y de los efectos neurobiológicos asociados a los cannabinoides sintéticos, naturales y a los propios endocannabinoides.

Se sabe cómo los endocannabinoides son sintetizados, liberados, recaptados y degradados a nivel de las células nerviosas, lo que confirma su posible función como neuromoduladores (Di Marzo, V.; Melck, D.; Bisogno, T.; De Petrocellis, L. *Trends Neurosci.* **1998**, 21, 521). La AEA se sintetiza a partir de la hidrólisis provocada por la fosfolipasa D de un precursor de membrana (N-araquidonilfosfatidiletanolamina), y es liberada al medio extracelular y recaptada por un sistema transportador presente en las neuronas y en las células gliales (Di Marzo, V.; Melck, D.; Bisogno, T.; De Petrocellis, L. *Trends Neurosci.* **1998**, 21, 521). Una vez dentro de la célula, es degradada por la acción de una hidrolasa específica para amidas de ácidos grasos [FAAH (Di Marzo, V.; Melck, D.; Bisogno, T.; De Petrocellis, L. *Trends Neurosci.* **1998**, 21, 521)]. Sin embargo, no se conoce la distribución exacta de las neuronas que producen AEA, lo que ha limitado hasta ahora el conocimiento de la función concreta de este endocannabinoides en los procesos cerebrales en los que ha sido implicado.

Desde la caracterización del sistema endocannabinoides, se han realizado notables avances en la síntesis de compuestos con una acción selectiva sobre las proteínas claves del funcionamiento de este sistema

(receptores, transportador, enzimas) y que pudieran ser susceptibles de usarse en algunas patologías (Pertwee, R. G. *Expert Opin. Invest. Drugs* **2000**, *9*, 1553). Estos compuestos podrían servir como una nueva línea de tratamiento farmacológico en diversas enfermedades para las que ya se han presentado las primeras evidencias de un posible efecto terapéutico de los cannabinoides. Entre éstos, se pueden destacar sus propiedades antinociceptivas (Calignano, A.; La Rana, G.; Giuffrida, A.; Piomelli, D. *Nature* **1998**, *394*, 277), su relevancia como agentes antiespásticos y antiespásmicos tanto en modelos de esclerosis múltiple (Baker, D.; Pryce, G.; Croxford, L. J.; Brown, P.; Pertwee, R. G.; Huffman, J. W.; Layward, L. *Nature* **2000**, *404*, 84) como en caso de lesiones a nivel de médula espinal (Pertwee, R. G. *Current Med. Chem.* **1999**, *6*, 635) y su eficacia como inhibidores del crecimiento de gliomas malignos (Galve-Roperh, I.; Sánchez, C.; Cortés, M. L.; Gómez del Pulgar, T.; Izquierdo, M.; Guzmán, M. *Nat. Med.* **2000**, *6*, 313).

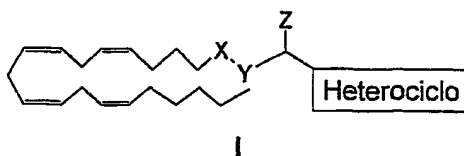
En los últimos años, se han desarrollado agonistas de los receptores para cannabinoides: (i) que poseen mayor estabilidad metabólica que la AEA, como la *R*-metanandamida (Khanolkar, A. D.; Makriyannis, A. *Life Sci.* **1999**, *65*, 607), (ii) con afinidad selectiva por los diferentes subtipos de receptor, como el HU-308 (primer agonista selectivo de los receptores CB₂) (Hanuš, L.; Breuer, A.; Tchilibon, S.; Shiloah, S.; Goldenberg, D.; Horowitz, M.; Pertwee, R. G.; Ross, R. A.; Mechoulam, R.; Fride, E. *P. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 14228), o (iii) que mejoran las condiciones de solubilidad acuosa de los cannabinoides, como el O-1057 (Pertwee, R. G. *Expert Opin. Invest. Drugs* **2000**, *9*, 1553). Estos compuestos podrían ser útiles en aquellas patologías en las que se ha demostrado una pérdida de actividad endocannabinoide. También se han desarrollado antagonistas selectivos de los receptores CB₁ y CB₂ capaces de bloquear las acciones *in vivo* e *in vitro* de los cannabinoides y que serían útiles en aquellas disfunciones en las que se postula una hiperactividad del sistema endocannabinoide (Pertwee, R. G. *Expert Opin. Invest. Drugs* **2000**, *9*, 1553).

Otra serie de compuestos interesantes desde el punto de vista de su posible utilización terapéutica serían los inhibidores del proceso de terminación de la acción biológica de los endocannabinoides (Pertwee, R. G. *Expert Opin. Invest. Drugs* **2000**, 9, 1553). Se han desarrollado inhibidores de la FAAH, como el AM374, que pueden, por tanto, prolongar la actividad endocannabinoide (Gifford, A. N.; Bruneus, M.; Lin, S. Y.; Goutopoulos, A.; Makriyannis, A.; Volkow, N. D.; Gatley, S. J. *Eur. J. Pharmacol.* **1999**, 383, 9). También se han desarrollado los primeros inhibidores del transportador de endocannabinoides que actúan potenciando la acción de éstos en aquellos procesos cuya finalización implica un sistema de recaptación (Beltramo, M.; Stella, N.; Calignano, A.; Lin, S. Y.; Makriyannis, A.; Piomelli, D. *Science* **1997**, 277, 1094). En particular, se han descrito las prometedoras aplicaciones terapéuticas para estos inhibidores en el tratamiento del corea de Huntington o de la esclerosis múltiple (Baker, D.; Pryce, G.; Croxford, J. L.; Brown, P.; Pertwee, R. G.; Makriyannis, A.; Khanolkar, A.; Layward, L.; Fezza, F.; Bisogno, T.; Di Marzo, V. *FASEB J. Express* 10.1096/fj.00-0399ffe). Sin embargo, a pesar del enorme esfuerzo realizado hasta la fecha, el transportador no ha sido aún caracterizado a nivel molecular y únicamente se ha descrito un compuesto, el AM404, capaz de inhibir el transportador de una forma potente y selectiva [$IC_{50} = 2,2 \pm 0,2 \mu M$ (Piomelli, D.; Beltramo, M.; Glasnapp, S.; Lin, S. Y.; Goutopoulos, A.; Xie, X.-Q.; Makriyannis, A. *P. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, 96, 5802)]. Además, datos muy recientes apuntan que el AM404 no actúa de forma selectiva sobre el transportador de endocannabinoides sino que puede unirse a otras dianas farmacológicas como los receptores para vanilloides (Zygmunt, P. M.; Chuang, H.; Movahed, P.; Julius D.; Högestätt, E. D. *Eur. J. Pharmacol.* **2000**, 396, 39). Asimismo, el destino metabólico de estos inhibidores es otro punto a tener en cuenta, ya que ha sido descrita (Klaassen, C. D. *Casarett & Doull's Toxicology The Basic Science of Poisons*, 5th ed.; Mc Graw-Hill Companies, Inc. USA, 1996; p. 345) la capacidad de ciertos aminofenoles —compuestos que se generarían en la hidrólisis de inhibidores del tipo del AM404— para generar metahemoglobina tanto *in vivo* como *in vitro*. Por tanto, resulta fundamental

disponer de nuevos inhibidores desprovistos de esta potencial toxicidad y que exhiban al mismo tiempo una elevada potencia y selectividad por el transportador de endocannabinoides, induciendo así un aumento en los niveles fisiológicos de estos ligandos con las interesantes aplicaciones terapéuticas que esto conlleva.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

Según un aspecto de la presente invención se proporcionan compuestos de fórmula general I:



En donde:

X representa CO, CS o CH₂

Y representa CH₂, O, S, NH o NR (R representa alquilo, alquilarilo o arilo)

Z representa H o un grupo alquilo, alquilarilo o arilo

Heterociclo representa una subunidad monocíclica aromática o una subunidad monocíclica alifática o sus derivados benzofusionados. El término subunidad monocíclica aromática se refiere a un anillo aromático con uno o dos heteroátomos opcionalmente sustituido (con la provisión que no es piridina), e.g., tiofeno, pirrol, furano, isoxazol, furano sustituido y semejantes. El término subunidad monocíclica alifática se refiere a un anillo alifático que contiene uno o dos heteroátomos (con la provisión que no es un sistema de 1,3-dioxolano) y unidades metilénicas opcionalmente sustituidas (con la provisión que el sustituyente no es un grupo hidroxilo).

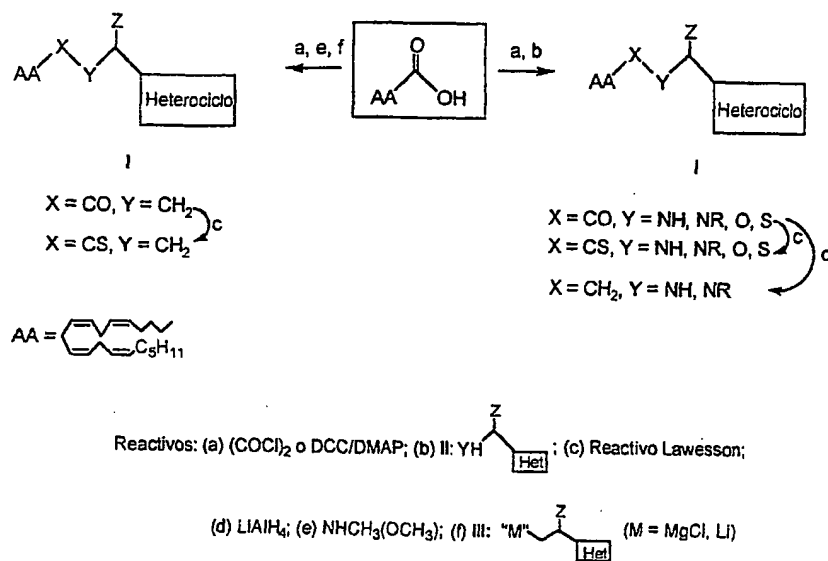
Los compuestos que aquí se describen son capaces de inhibir el transportador de endocannabinoides con mayor potencia que los

compuestos estructuralmente más próximos conocidos en la técnica. Además, a diferencia de éstos, presentan una potencial evolución a metabolitos no tóxicos exhibiendo asimismo selectividad por el transportador frente a los receptores de cannabinoides CB₁ y CB₂ y de vanilloides VR₁.

5

Según otro aspecto de la presente invención se proporciona un procedimiento para la preparación de los compuestos de fórmula general I, según se representa en los Esquemas 1 y 2.

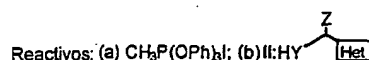
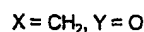
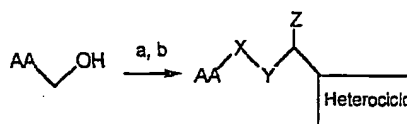
10



Esquema 1

15

20



Esquema 2

5

Las definiciones de X, Y, Z y heterociclo mostradas en estos Esquemas son idénticas a las realizadas anteriormente para los productos de la invención.

Los derivados no comerciales II y III se preparan siguiendo rutas sintéticas descritas en la literatura (Hudlický, M. *Reductions in Organic Chemistry*, 2nd ed.; American Chemical Society: Washington DC, 1996; pp 187-190; Nahm, S.; Weinreb, S. M. *Tetrahedron Lett.* **1981**, 22, 3815).

Los productos finales se han caracterizado estructuralmente mediante técnicas de IR, RMN y análisis elemental cuantitativo. Para una mayor facilidad de manejo cuando el producto final no es cristalino se transforma en una sal aceptable farmacéuticamente, derivada de un ácido inorgánico u orgánico.

Se ha evaluado la capacidad para inhibir el transportador de endocannabinoides así como la afinidad receptorial CB₁, CB₂ y VR₁ de los compuestos de fórmula general I.

La determinación de la capacidad de los diferentes compuestos sintetizados para inhibir la recaptación de endocannabinoides se ha llevado a cabo en cultivos de la línea celular de linfoma humano U937 utilizando

[³H]-anandamida como trazador, en presencia o ausencia de diferentes concentraciones de cada compuesto objeto de estudio.

La determinación de la afinidad (K_i) de los compuestos de estructura general I por los dos subtipos de receptores de cannabinoides CB₁ y CB₂ así como por el receptor de vanilloides VR₁, se ha llevado a cabo mediante técnicas de desplazamiento de radioligandos *in vitro*, utilizando, respectivamente, los siguientes tipos de tejido y de radioligandos específicos: (a) receptores CB₁, cerebelo de rata y [³H]-WIN55,212-2 (b) receptores CB₂, membranas procedentes de células transfectadas con el receptor CB₂ humano y [³H]-CP55,940 y (c) receptores VR₁, médula espinal de rata y [³H]resiniferatoxina ([³H]RTX).

MODO DE REALIZACIÓN DE LA INVENCIÓN

La presente invención se ilustra con los siguientes ejemplos no limitativos.

EJEMPLOS

EJEMPLO 1: Síntesis de los compuestos de fórmula general I

Procedimiento general:

Método A. En un matraz de dos bocas, bajo atmósfera de argón, a 1 equivalente de ácido araquidónico, (0,33 mmol, 111,1 mg) (Sigma, 90 % de pureza) en cloruro de metileno anhidro (1,5 mL/mmol) se le adicionó DMF anhidra (1 equivalente; 0,1 mL/mmol), y cloruro de oxalilo (2 equivalentes; 0,2 mL/mmol) previamente disueltos en cloruro de metileno anhidro (0,5 mL/mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una hora y a continuación se eliminó el disolvente utilizando una bomba de vacío, obteniéndose un residuo sólido que se redisolvió en cloruro de metileno anhidro (15 mL/mmol de ácido araquidónico), siempre bajo

atmósfera de argon. Sobre el residuo formado se añadieron 10 equivalentes del derivado II correspondiente disueltos en cloruro de metileno anhidro (1 mL/mmol). La reacción se siguió por cromatografía en capa fina (c.c.f.) hasta la desaparición del producto de partida utilizando como eluyente
5 cloroformo:metanol, 95:5. Finalmente, la reacción se hidrolizó con agua destilada (15 mL/mmol de ácido araquidónico). A continuación, el crudo se extrajo con cloroformo (3 x 10 mL/mmol de ácido araquidónico) y se lavó con una disolución saturada de cloruro sódico. La fase orgánica se secó sobre sulfato magnésico anhidro, eliminando después el disolvente a presión
10 reducida. Finalmente, el crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice utilizando el eluyente adecuado.

Método B. En un matraz de dos bocas, bajo atmósfera de argon, a 1 equivalente de ácido araquidónico, (0,33 mmol, 111,1 mg) (Sigma, 90 % de
15 pureza) en cloruro de metileno anhidro (1,5 mL/mmol) y 1,5 equivalentes del derivado II correspondiente disueltos en cloruro de metileno anhidro (1 mL/mmol), enfriado en baño de hielo, se le añadió una mezcla de 1 equivalente (0,33 mmol, 68,1 mg) de dicitclohexilcarbodiimida (DCC) y 0,068 equivalentes (0,022 mmol, 2,7 mg) de 4-dimetilaminopiridina (DMAP) en
20 cloruro de metileno anhidro (3 mL/mmol DCC). La mezcla de reacción se agitó a esta temperatura durante cinco minutos y después a temperatura ambiente, siempre bajo atmósfera de argon, siguiéndose por c.c.f. hasta la desaparición del producto de partida utilizando como eluyente cloroformo:metanol, 95:5. A continuación, se filtró la dicitclohexilurea formada
25 y el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo así obtenido se redisolvió en cloruro de metileno anhidro (20 mL/mmol) lavándose consecutivamente con una disolución de ácido clorhídrico 0,5 M y con disolución saturada de cloruro sódico. La fase orgánica se secó sobre sulfato magnésico anhidro, eliminando después el disolvente a presión reducida.
30 Finalmente, el crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice utilizando el eluyente adecuado.

Síntesis del eicosa-5,8,11,14-tetraenoato de 2-furilmetilo, 1.

Siguiendo el método A, se obtuvo 1 como aceite con un rendimiento del 57%.

¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃-δ): 0,78 (t, 3H, J = 6,8 Hz), 1,15-1,36 (m, 6H),
5 1,60 (qt, 2H, J = 7,5 Hz), 1,93-2,08 (m, 4H), 2,28 (t, 2H, J = 7,4 Hz), 2,74 (m,
6H), 4,99 (s, 2H), 5,30 (m, 8H), 6,35 (dd, 1H, J = 3,2, 1,8 Hz), 6,39 (dm, 1H,
J = 3,1 Hz) 7,41 (dd, 1H, J = 1,8, 0,8 Hz).

Síntesis del eicosa-5,8,11,14-tetraenoato de 3-furilmetilo, 2.

10 Siguiendo el método A, se obtuvo 2 como aceite con un rendimiento del 55%.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃-δ): 0,88 (t, 3H, J = 6,6 Hz), 1,22-1,37 (m, 6H),
1,70 (qt, 2H, J = 7,5 Hz), 2,07 (m, 4H), 2,32 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 2,80 (m, 6H),
4,97 (s, 2H), 5,35 (m, 8H), 6,41 (m, 1H), 7,38 (m, 1H), 7,45 (m, 1H).

15

Síntesis del (±)-eicosa-5,8,11,14-tetraenoato de 2-tetrahidrofurilmetilo, 3.

Siguiendo el método A, se obtuvo 3 como aceite con un rendimiento del 48%.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃-δ): 0,86 (t, 3H, J = 6,9 Hz), 1,22-1,38 (m, 6H),
20 1,53-1,63 (m, 2H), 1,70 (qt, 2H, J = 7,5 Hz), 1,83-1,95 (m, 2H) 1,98-2,12 (m,
4H), 2,33 (t, 2H, J = 7,6 Hz), 2,76-2,82 (m, 6H), 3,74 (m, 1H), 3,79 (m, 1H),
3,92 (m, 1H), 4,05-4,20 (m, 2H), 5,32-5,35 (m, 8H).

Síntesis del (±)-eicosa-5,8,11,14-tetraenoato de 3-tetrahidrofurilmetilo, 4.

25 Siguiendo el método A, se obtuvo 4 como aceite con un rendimiento del 38%.

¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃-δ): 0,88 (t, 3H, J = 6,8 Hz), 1,30 (m, 6H), 1,54-
1,77 (m, 3H), 1,95-2,16 (m, 5H), 2,32 (t, 2H, J = 7,8 Hz), 2,50-2,64 (m, 1H),
2,78-2,86 (m, 6H), 3,56 (dd, 1H, J = 8,8, 5,6 Hz), 3,69-4,13 (m, 5H), 5,26-
30 5,41 (m, 8H).

Síntesis del eicosa-5,8,11,14-tetraenoato de 2-tienilmetilo, 5.

Seguendo el método A, se obtuvo 5 como aceite con un rendimiento del 49%.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃-δ): 0,88 (t, 3H, J = 6,9 Hz), 1,25-1,37 (m, 6H),
5 1,70 (qt, 2H, J = 7,5 Hz), 2,07 (m, 4H), 2,33 (t, 2H, J = 7,8 Hz), 2,75-2,84 (m, 6H), 5,26 (s, 2H), 5,35 (m, 8H), 6,97 (dd, 1H, J = 5,1, 3,6 Hz), 7,08 (d, 1H, J = 3,3 Hz), 7,30 (d, 1H, J = 5,4 Hz).

Síntesis del eicosa-5,8,11,14-tetraenoato de 3-tienilmetilo, 6.

10 Seguendo el método A, se obtuvo 6 como aceite con un rendimiento del 89%.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃-δ): 0,88 (t, 3H, J = 7,2 Hz), 1,29 (m, 6H), 1,71 (qt, 2H, J = 7,5 Hz), 2,07 (m, 4H), 2,34 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 2,75-2,84 (m, 6H),
15 5,11 (s, 2H), 5,30-5,41 (m, 8H), 7,07 (dd, 1H, J = 4,8, 1,2 Hz), 7,28-7,31 (m, 2H).

Síntesis de la N-(2-furilmetil)eicosa-5,8,11,14-tetraenamida, 7.

Seguendo el método A, se obtuvo 7 como aceite con un rendimiento del 57%.

20 ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃-δ): 0,87 (t, 3H, J = 6,8 Hz), 1,24-1,28 (m, 6H), 1,75 (qt, 2H, J = 7,1 Hz), 1,97-2,22 (m, 6H), 2,79 (m, 6H), 4,41 (d, 2H, J = 5,4 Hz), 5,35 (m, 8H), 5,83 (s ancho, 1H), 6,20 (dm, 1H, J = 7,4 Hz), 6,30 (m, 1H), 7,30 (m, 1H).

25 Síntesis de la (±)-N-(2-tetrahidrofurilmetil)eicosa-5,8,11,14-tetraenamida, 8.

Seguendo el método A, se obtuvo 8 como aceite con un rendimiento del 83%.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃-δ): 0,85 (t, 3H, J = 6,0 Hz), 1,22-1,35 (m, 6H), 1,46-1,55 (m, 1H), 1,71 (qt, 2H, J = 7,8 Hz), 1,87 (m, 4H), 1,97-2,11 (m, 3H),
30 2,16 (t, 2H, J = 7,2 Hz), 2,76-2,82 (m, 6H), 3,07 (ddd, 1H, J = 13,5, 7,5, 4,5 Hz), 3,57 (ddd, 1H, J = 13,8, 6,6, 3,3 Hz), 3,70 (q, 1H, J = 6,9 Hz), 3,81 (q,

1H, $J = 6,6$ Hz), 3,91 (qd, 1H, $J = 7,5, 3,3$ Hz), 5,26-5,39 (m, 8H) 5,81 (s ancho, 1H).

Síntesis de la N-(3-furilmetil)eicosa-5,8,11,14-tetraenamida, 9.

5 Siguiendo el método A, se obtuvo 9 como aceite con un rendimiento del 45%.

$^1\text{H-RMN}$ (200 MHz, CDCl_3 - δ): 0,88 (t, 3H, $J = 6,0$ Hz), 1,22-1,35 (m, 6H), 1,73 (qt, 2H, $J = 7,4$ Hz), 2,00-2,23 (m, 6H), 2,80 (m, 6H), 4,28 (d, 2H, $J = 5,6$ Hz), 5,36 (m, 8H), 5,58 (s ancho, 1H), 6,36 (m, 1H), 7,37 (m, 2H).

10

Síntesis de la N-[2-(1-metilpirrolil)metil]eicosa-5,8,11,14-tetraenamida, 10.

Siguiendo el método A, se obtuvo 10 como aceite con un rendimiento del 48%.

15 $^1\text{H-RMN}$ (200 MHz, CDCl_3 - δ): 0,88 (t, 3H, $J = 6,0$ Hz), 1,25-1,39 (m, 6H), 1,72 (qt, 2H, $J = 7,3$ Hz), 2,00-2,24 (m, 6H), 2,81 (m, 6H), 3,57 (s, 3H), 4,43 (d, 2H, $J = 5,1$ Hz), 5,36 (m, 8H), 5,43 (s ancho, 1H), 6,06 (d, 2H, $J = 2,4$ Hz), 6,61 (t, 1H, $J = 2,2$ Hz).

Síntesis de la N-(2-tienilmetil)eicosa-5,8,11,14-tetraenamida, 11.

20 Siguiendo el método A, se obtuvo 11 como aceite con un rendimiento del 72%.

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 - δ): 0,92 (t, 3H, $J = 6,6$ Hz), 1,33 (m, 6H), 1,75 (qt, 2H, $J = 7,4$ Hz), 2,05-2,17 (m, 4H), 2,22 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz), 2,84 (m, 6H), 4,61 (d, 2H, $J = 5,4$ Hz), 5,32-5,39 (m, 8H), 6,08 (s ancho, 1H), 6,96 (m, 2H), 25 7,22-7,24 (m, 1H).

Síntesis del (\pm)-eicosa-5,8,11,14-tetraenoato de 1-(2-furil)etilo, 12.

Siguiendo el método B, se obtuvo 12 como aceite con un rendimiento del 68%.

30 $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 - δ): 0,87 (t, 3H, $J = 6,8$ Hz), 1,24-1,36 (m, 6H), 1,56 (d, 3H, $J = 6,9$ Hz), 1,68 (qt, 2H, $J = 7,5$ Hz), 2,00-2,11 (m, 4H), 2,30 (t,

2H, $J = 7,5$ Hz), 2,74-2,83 (m, 6H), 5,28-5,42 (m, 8H), 5,96 (q, 1H, $J = 6,6$ Hz), 6,28-6,32 (m, 2H), 7,35-7,36 (m, 1H).

Síntesis del (R)-(+)-eicosa-5,8,11,14-tetraenoato de 1-(2-furil)etilo, 13.

5 Siguiendo el método B, se obtuvo 13 como aceite con un rendimiento del 55%.

Los datos de 13 coinciden con el racémico 12 exceptuando la rotación óptica con un valor de $[\alpha]_D^{20} = + 29,6$ ($c = 3,0$, EtOH).

10 Síntesis del (S)-(-)-eicosa-5,8,11,14-tetraenoato de 1-(2-furil)etilo, 14.

Siguiendo el método B, se obtuvo 14 como aceite con un rendimiento del 55%.

Los datos de 14 coinciden con el racémico 12 exceptuando la rotación óptica con un valor de $[\alpha]_D^{20} = - 31,7$ ($c = 2,9$, EtOH).

15

Síntesis del eicosa-5,8,11,14-tetraenoato de S-2-furilmetilo, 15.

Siguiendo el método B, se obtuvo 15 como aceite con un rendimiento del 59%.

^1H -RMN (200 MHz, CDCl_3 - δ): 0,89 (t, 3H, $J = 6,6$ Hz), 1,25-1,40 (m, 6H),
20 1,75 (qtm, 2H, $J = 7,3$ Hz), 2,01-2,16 (m, 4H), 2,58 (t, 2H, $J = 7,8$ Hz), 2,76-
2,86 (m, 6H), 4,15 (s, 2H), 5,27-5,47 (m, 8H), 6,21 (dq, 1H, $J = 3,2, 0,7$ Hz),
6,28 (dd, 1H, $J = 3,2, 1,7$ Hz) 7,32 (dd, 1H, $J = 1,7, 0,7$ Hz).

25 **EJEMPLO 2: Determinación de la capacidad inhibitoria del transportador de endocannabinoides**

La determinación de la capacidad de los diferentes compuestos sintetizados para inhibir la recaptación de endocannabinoides se ha llevado a cabo en cultivos de la línea celular de linfoma humano U937, utilizando
30 $[^3\text{H}]$ -anandamida como trazador en presencia o ausencia de diferentes concentraciones de cada compuesto objeto de estudio.

El ensayo de recaptación de anandamida se realizó con células intactas en medio completo a una concentración de 10^6 células/mL. Las suspensiones de células (1 mL) se preincubaron a 37 °C durante 10 minutos en presencia o ausencia de un intervalo de concentraciones (5×10^{-5} - 10^{-7} M) del compuesto objeto de estudio. A continuación las muestras se incubaron a 37 °C durante 7 minutos en un medio con una concentración final de anandamida de 100 nM, de la cual 0,45 nM corresponde a [3 H]-anandamida (220 Ci/mmol). La incubación se terminó mediante filtración a vacío de la suspensión de células utilizando filtros Whatman GF/C, previamente equilibrados en una disolución de albúmina de suero bovino al 0,25 %. Las células retenidas en el filtro se lavaron cuatro veces con una disolución de albúmina de suero bovino (BSA) libre de ácidos grasos al 1 % en tampón Krebs-Hepes (pH = 7,4) y la radioactividad correspondiente a la [3 H]-anandamida recaptada por las células se midió en un contador de centelleo β .

La inhibición de la recaptación de [3 H]-anandamida por los diferentes compuestos ensayados se determinó mediante el cálculo del porcentaje de recaptación específica respecto a la recaptación total en ausencia de inhibidor. La recaptación específica se obtuvo previa sustracción de la recaptación inespecífica cuantificada en experimentos control realizados a 4 °C. La CI_{50} para cada compuesto se determinó a partir del ajuste de los porcentajes de recaptación específica encontrados para cada una de las concentraciones ensayadas de los distintos compuestos. El ajuste se realizó mediante regresión no lineal a la curva sigmoidea descrita por la ecuación $\%R = 100 (1 - C^b)/(CI_{50}^b + C^b)$, obtenida con el programa Prism (GraphPad), donde %R representa el porcentaje de anandamida recaptada, b es la pendiente de la curva y C la concentración del compuesto objeto de estudio.

Para realizar la puesta a punto de este ensayo de recaptación y comprobar la validez de los resultados con él obtenidos se determinó en primer lugar la CI_{50} del AM404, descrita en la literatura como $CI_{50} = 2,2 \pm 0,2$ μ M (Piomelli, D.; Beltramo, M.; Glasnapp, S.; Lin, S. Y.; Goutopoulos, A.;

Xie, X.-Q.; Makriyannis, A. *P. Natl. Acad. Sci. USA*. **1999**, *96*, 5802). En este experimento se obtuvo un valor de $CI_{50} = 4 \pm 2 \mu M$, lo que está en excelente acuerdo con los datos descritos previamente para este compuesto y confirmó la fiabilidad del ensayo.

- 5 En la Tabla 1 se recogen los datos de la capacidad para inhibir la recaptación de anandamida expresados como CI_{50} (μM) mostrada por los compuestos sintetizados, incluyéndose como valor de referencia el del AM404.

10 **EJEMPLO 3: Determinación de la afinidad receptorial CB_1**

La determinación de la capacidad de unión de los diferentes compuestos sintetizados al subtipo CB_1 del receptor de cannabinoides se ha realizado mediante ensayos de desplazamiento de radioligando *in vitro* utilizando como tejido membranas de cerebelo de rata y [3H]-WIN55,212-2 como ligando radioactivo.

Las membranas se obtuvieron mediante homogeneización del cerebelo con un Polytron durante 20 segundos en tampón Tris-HCl 50 mM (pH = 7,4) y posterior centrifugación a 48000g durante 10 minutos a 4 °C. Tras varios lavados, el sedimento de membranas se resuspendió en 20 volúmenes de tampón de incubación (Tris-HCl 50 mM, EDTA 1 mM, $MgCl_2$ 3 mM y BSA libre de ácidos grasos 5 mg/mL) para alcanzar una concentración de proteínas en la suspensión de alrededor de 5 mg/mL.

El ensayo de unión se realizó en tubos de borosilicato previamente siliconizados con Sigmacote. Las membranas de cerebelo se incubaron en un volumen final de 0,5 mL de tampón Tris-HCl 50 mM, EDTA 1 mM, $MgCl_2$ 3 mM y BSA libre de ácidos grasos 5 mg/mL (pH = 7,4) durante 90 minutos a 30 °C en presencia o ausencia de un intervalo de concentraciones (10^{-5} - 10^{-10} M) de los diferentes compuestos objeto de estudio y con una concentración de radioligando [3H]-WIN55,212-2 de 0,5 nM. La unión inespecífica se determinó en presencia de SR141716A a una concentración de 10 μM .

La separación del ligando unido a membrana del ligando libre se realizó mediante filtración a vacío utilizando un aparato de filtración múltiple con filtros Whatman GF/C previamente equilibrados en una disolución de BSA 1 mg/mL en tampón Tris-HCl 50 mM (pH = 7,4). Los filtros se lavaron
5 tres veces con 5 mL del mismo tampón y la radioactividad retenida en el filtro se midió en un contador de centelleo β .

La unión específica de los compuestos se calculó como la diferencia entre la unión total y la unión inespecífica. El cálculo de la CI_{50} se ha realizado mediante regresión no lineal de la curva de desplazamiento,
10 obtenida con el programa Prism (GradPad), utilizando la ecuación % U.E. = $(1 - C^b)/(CI_{50}^b + C^b)$, donde % U.E. representa el porcentaje de unión específica del radioligando, b es la pendiente de la curva y C la concentración del compuesto objeto de estudio. La conversión de CI_{50} a K_i se ha llevado a cabo mediante la ecuación de Cheng-Prusoff: $K_i = CI_{50} / (1 +$
15 $L/K_D)$ donde L es la concentración de radioligando y K_D su constante de disociación.

En la Tabla 1 se recogen los datos de afinidad receptorial expresados como K_i (nM) mostrada por los compuestos sintetizados, incluyéndose como referencia el valor de la afinidad del ligando WIN55,212-2.

20

EJEMPLO 4: Determinación de la afinidad receptorial CB_2

La determinación de la capacidad de unión de los diferentes compuestos sintetizados al subtipo CB_2 del receptor de cannabinoides se ha
25 realizado mediante ensayos de desplazamiento de radioligando *in vitro* utilizando como tejido membranas de células HEK293EBNA transfectadas con el receptor CB_2 humano (kit comercial) y [3H]-CP55,940 como ligando radioactivo.

Las membranas se resuspendieron en tampón de incubación Tris-HCl
30 50 mM, EGTA 2,5 mM, $MgCl_2$ 5 mM y BSA libre de ácidos grasos 1 mg/mL (pH = 7,5) para alcanzar una concentración de proteínas en la suspensión de alrededor de 1,44 mg/mL.

El ensayo de unión se realizó en tubos de borosilicato previamente siliconizados con Sigmacote. Las membranas de las células se incubaron en un volumen final de 0,2 mL de tampón Tris-HCl 50 mM, EGTA 2,5 mM, MgCl₂ 5 mM y BSA libre de ácidos grasos 1 mg/mL (pH = 7,5) durante 90 minutos a 30 °C en presencia o ausencia de un intervalo de concentraciones (10⁻⁵-10⁻¹⁰ M) de los diferentes compuestos objeto de estudio y con una concentración de radioligando [³H]-CP55,940 de 0,3 nM. La unión inespecífica se determinó en presencia de CP-55,940 a una concentración de 5 µM.

La separación del ligando unido a membrana del ligando libre se realizó mediante filtración a vacío utilizando un aparato de filtración múltiple con filtros Whatman GF/C previamente equilibrados en una disolución de polietilenimina (PEI) al 0,05 %. Los filtros se lavaron tres veces con 5 mL de tampón Tris-HCl 50 mM y BSA libre de ácidos grasos 1 mg/mL (pH = 7,4) y la radioactividad retenida en el filtro se midió en un contador de centelleo β.

La unión específica de los compuestos se calculó como la diferencia entre la unión total y la unión inespecífica. El cálculo de la CI₅₀ se ha realizado según se detalla en el ejemplo 3.

En la Tabla 1 se recogen los datos de afinidad receptorial expresados como K_i (nM) mostrada por los compuestos sintetizados, incluyéndose como referencia el valor de la afinidad del ligando WIN55,212-2.

EJEMPLO 5: Determinación de la afinidad receptorial VR₁

La determinación de la capacidad de unión de los diferentes compuestos sintetizados al subtipo VR₁ del receptor de vanilloides se ha realizado mediante ensayos de desplazamiento de radioligando *in vitro* utilizando como tejido membranas de médula espinal de rata y [³H]-RTX como ligando radioactivo.

Las membranas se obtuvieron mediante homogeneización en incubación en tampón HEPES 10 mM, KCl 5 mM, NaCl 5,8 mM, CaCl₂ 0,75

mM, MgCl_2 2 mM y sacarosa 320 mM (pH = 7,4) y centrifugación a 1000g durante 10 minutos a 4 °C. El sobrenadante se retiró y las membranas se centrifugaron de nuevo a 35000g durante 30 minutos a 4 °C. Finalmente, el sedimento se resuspendió en 10 volúmenes de tampón HEPES 10 mM, KCl 5 mM, NaCl 5,8 mM, CaCl_2 0,75 mM, MgCl_2 2 mM y sacarosa 320 mM (pH = 7,4) para alcanzar una concentración de proteínas en la suspensión de alrededor de 1 mg/mL.












Las membranas de las células se incubaron en un volumen final de 0,5 mL de tampón HEPES 10 mM, KCl 5 mM, NaCl 5,8 mM, CaCl_2 0,75 mM, MgCl_2 2 mM y sacarosa 320 mM (pH = 7,4) durante 60 minutos a 37 °C en presencia o ausencia de un intervalo de concentraciones (10^{-5} - 10^{-10} M) de los diferentes compuestos objeto de estudio y con una concentración de radioligando [^3H]-RTX de 25 pM. La unión inespecífica se determinó en presencia de RTX a una concentración de 1 μM .

La reacción se detuvo por enfriamiento en baño de hielo. A continuación se adicionaron 100 μg de glicoproteína ácida α_1 bovina en 50 μL de tampón para disminuir la unión inespecífica. La separación del ligando unido a membrana del ligando libre se realizó mediante centrifugación. Tras centrifugar, el sobrenadante se retiró cuidadosamente y el sedimento se secó. A continuación, se cortó el extremo de los tubos eppendorf los cuales contenían el sedimento y se midió la radioactividad aquí retenida en un contador de centelleo β .

La unión específica de los compuestos se calculó como la diferencia entre la unión total y la unión inespecífica. El cálculo de la CI_{50} se ha realizado según se detalla en el ejemplo 3.

En la Tabla 1 se recogen los datos de afinidad receptorial expresados como K_i (nM) mostrada por los compuestos sintetizados, incluyéndose como referencia el valor de la afinidad del ligando RTX.

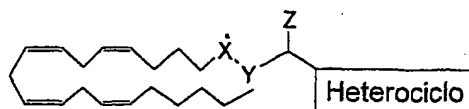
Tabla 1

X	Y	Heterociclo	Cl ₅₀ (μM)	K _i CB ₁ (nM)	K _i CB ₂ (nM)	K _i VR ₁ (nM)
CO	O		24 ± 14	> 5000	> 5000	> 5000
CO	O		14 ± 2	> 5000	> 5000	<i>a</i>
CO	O		18 ± 7	> 5000	> 5000	> 5000
CO	O		inactivo	> 5000	> 5000	> 5000
CO	O		3 ± 2	> 5000	> 5000	> 5000
CO	NH		5 ± 2	> 5000	> 5000	<i>a</i>
CO	NH		8 ± 2	> 5000	> 5000	> 5000
CO	O		<i>b</i>	> 5000	> 5000	-
CO	NH		5,0 ± 0,7	124 ± 1	70 ± 5	> 5000
CO	NH		0,8 ± 0,4	> 4500	67 ± 6	> 5000
CO	NH		5,7 ± 0,6	> 1000	> 1000	> 5000
AM404			4 ± 2	> 5000	> 5000	> 5000
WIN55,212-2				4,5 ± 0,4	3,9 ± 0,8	
RTX						(39,8 ± 0,9) · 10 ⁻³

^aEstos compuestos presentan una cierta afinidad por el receptor VR₁ (K_i < 5000 nM). ^bEste compuesto presenta una curva de inhibición distinta que no ajusta a la tendencia sigmoideal dosis-respuesta característica del resto de los compuestos.

REIVINDICACIONES

1. Compuestos de fórmula general I:



sus estereoisómeros y sus mezclas, y las sales y solvatos farmacéuticamente aceptables, en la que:

X es CO, CS o CH₂

Y es CH₂, O, S, NH o NR (R es alquilo, alquilarilo o arilo)

Z es H o un grupo alquilo, alquilarilo o arilo

Heterociclo es una subunidad monocíclica aromática con uno o dos heteroátomos (tiofeno, pirrol, furano, isoxazol, furano sustituido) con la provisión que no es piridina, o una subunidad monocíclica alifática con uno o dos heteroátomos (con la provisión que no es un sistema de 1,3-dioxolano) y unidades metilénicas opcionalmente sustituidas (con la provisión que el sustituyente no es un grupo hidroxilo) o los derivados benzofusionados de ambas subunidades.

2. Compuestos según la reivindicación 1, donde X es CO o CS; Y es NH o NR (R es alquilo, alquilarilo o arilo); Z es H, alquilo, alquilarilo o arilo y el heterociclo es una subunidad monocíclica aromática con uno o dos heteroátomos (tiofeno, pirrol, furano, isoxazol, furano sustituido) con la provisión que no es piridina, o una subunidad monocíclica alifática con uno o dos heteroátomos (con la provisión que no es un sistema de 1,3-dioxolano) y unidades metilénicas opcionalmente sustituidas (con la provisión que el sustituyente no es un grupo hidroxilo) o los derivados benzofusionados de ambas subunidades.

3. Compuestos según la reivindicación 1, donde X es CO o CS; Y es O; Z es H, alquilo, alquilarilo o arilo y el heterociclo es una subunidad

monocíclica aromática con uno o dos heteroátomos (tiofeno, pirrol, furano, isoxazol, furano sustituido) con la provisión que no es piridina, o una subunidad monocíclica alifática con uno o dos heteroátomos (con la provisión que no es un sistema de 1,3-dioxolano) y unidades metilénicas
5 opcionalmente sustituidas (con la provisión que el sustituyente no es un grupo hidroxilo) o los derivados benzofusionados de ambas subunidades.

4. Compuestos según la reivindicación 1, donde X es CO o CS; Y es CH₂; Z es H, alquilo, alquilarilo o arilo y el heterociclo es es una subunidad
10 monocíclica aromática con uno o dos heteroátomos (tiofeno, pirrol, furano, isoxazol, furano sustituido) con la provisión que no es piridina, o una subunidad monocíclica alifática con uno o dos heteroátomos (con la provisión que no es un sistema de 1,3-dioxolano) y unidades metilénicas opcionalmente sustituidas (con la provisión que el sustituyente no es un
15 grupo hidroxilo) o los derivados benzofusionados de ambas subunidades.

5. Compuestos según la reivindicación 1, donde X es CH₂; Y es O; Z es H, alquilo, alquilarilo o arilo y el heterociclo es es una subunidad monocíclica aromática con uno o dos heteroátomos (tiofeno, pirrol, furano, isoxazol,
20 furano sustituido) con la provisión que no es piridina, o una subunidad monocíclica alifática con uno o dos heteroátomos (con la provisión que no es un sistema de 1,3-dioxolano) y unidades metilénicas opcionalmente sustituidas (con la provisión que el sustituyente no es un grupo hidroxilo) o los derivados benzofusionados de ambas subunidades.

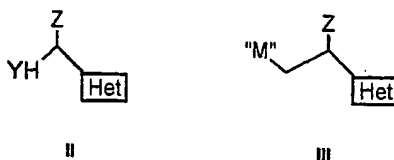
25

6. Compuestos según la reivindicación 1, donde X es CH₂; Y es NH o NR (R representa alquilo, alquilarilo o arilo); Z es H, alquilo, alquilarilo o arilo y el heterociclo es una subunidad monocíclica aromática con uno o dos heteroátomos (tiofeno, pirrol, furano, isoxazol, furano sustituido) con la
30 provisión que no es piridina, o una subunidad monocíclica alifática con uno o dos heteroátomos (con la provisión que no es un sistema de 1,3-dioxolano) y unidades metilénicas opcionalmente sustituidas (con la provisión que el

sustituyente no es un grupo hidroxilo) o los derivados benzofusionados de ambas subunidades.

7. Compuestos según la reivindicación 1, donde X es CO; Y es NH o O; Z es H y el heterociclo es una subunidad monocíclica aromática con un heteroátomo (tiofeno o furano).

8. Procedimiento para la preparación de compuestos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores caracterizado por la reacción de II o III



con el derivado del ácido araquidónico conveniente donde Y es O, S, NH, o NR (R es alquilo, alquilarilo o arilo), M es MgCl o Li, Z es H, alquilo, alquilarilo o arilo y el heterociclo es una subunidad monocíclica aromática con uno o dos heteroátomos (tiofeno, pirrol, furano, isoxazol, furano sustituido) con la provisión que no es piridina, o una subunidad monocíclica alifática con uno o dos heteroátomos (con la provisión que no es un sistema de 1,3-dioxolano) y unidades metilénicas opcionalmente sustituidas (con la provisión que el sustituyente no es un grupo hidroxilo) o los derivados benzofusionados de ambas subunidades.

9. Composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de cualquiera de los productos definidos en las reivindicaciones de la 1 a la 7 junto con excipientes farmacéuticamente aceptables.

10. Uso de un compuesto definido en cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 7, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas y de procesos tumorales.
11. Uso de un compuesto definido en cualquiera de las reivindicaciones
5 de la 1 a la 7, para la preparación de un medicamento para el tratamiento del corea de Huntington o de la esclerosis múltiple.
12. Uso de un compuesto definido en cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 7, para la preparación de un medicamento para el tratamiento
10 tumores de próstata y gliomas malignos.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES 01/00305

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C 07C 233/21, 69/587, A61K 31/232, 31/165

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C 07C, A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 0032200 A (A. MAKRIYANNIS et al.), 08.06.00, Claims, table 1.	1-12
Y	WO 9964389 A (A. MAKRIYANNIS et al.), 16.12.1999 Claims 1, 8; table 1, AM 1191	1-12
A	WO 9745407 A (UNIVERSITY OF CONNECTICUT), 04.12.1997 Claims	1-12
P,A	WO 0128498 A (UNIVERSITY OF CONNECTICUT), 26.04.2001. Claims	1-12
A	Base de datos CAPLUS en STN, AN 1999:314488 & Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1999, Vol. 96, páginas 5802-5807. D. Pionelli et al. "Structural determinants for recognition and translocation by the anandamide transporter" Abstract	1-12

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
05 October 2001 (05.10.01)Date of mailing of the international search report
25 October 2001 (25.10.01)

Name and mailing address of the ISA/

S.P.T.O

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International Application No
PCT/ES 01/00305

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0032200	08.06.2000	EP 1049474	08.11.2000
		AU 200018336	19.06.2000
WO 9964389	16.12.1999	EP 1084098	21.03.2001
WO 9745407	04.12.1997	JP 2000511540	05.09.2000
		US 5688825	18.11.1997
		AU 3229097	05.01.1998
		EP 1021406	26.07.2000
WO 0128498	26.04.2001	AU 200119692	30.04.2001

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1992)

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional n°

PCT/ES 01/00305

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

CIP⁷ C 07C 233/21, 69/587, A61K 31/232, 31/165

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y la CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima consultada (sistema de clasificación, seguido de los símbolos de clasificación)

CIP⁷ C 07C, A61K

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones n°
Y	WO 0032200 A (A. MAKRIYANNIS et al.), 08.06.00, reivindicaciones, tabla 1.	1-12
Y	WO 9964389 A (A. MAKRIYANNIS et al.), 16.12.1999 reivindicaciones 1, 8; tabla 1, AM 1191.	1-12
A	WO 9745407 A (UNIVERSITY OF CONNECTICUT), 04.12.1997 reivindicaciones.	1-12
P,A	WO 0128498 A (UNIVERSITY OF CONNECTICUT), 26.04.2001. Reivindicaciones.	1-12
A	Base de datos CAPLUS en STN, AN 1999:314488 & Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1999, Vol. 96, páginas 5802-5807. D. Pionelli et al. "Structural determinants for recognition and translocation by the anandamide transporter" Resumen.	1-12

☐ En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos ☒ Los documentos de familia de patentes se indican en el anexo

* Categorías especiales de documentos citados:	"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.
"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.	"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.
"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.	"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.
"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).	"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.
"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.	
"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.	

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional. 5 octubre 2001 (05.10.2001)

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional

25 OCT 2001

25.10.01

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional O.E.P.M.
C/Panamá 1, 28071 Madrid, España.
n° de fax +34 91 3495304

Funcionario autorizado
P. Fernández

n° de teléfono +34 91 349 53 52

INFORME DE BUSQUEDA INTERNACIONAL
 Información relativa a miembros de familias de patentes

Solicitud internacional n°
 PCT/ES 01/00305

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de publicación
WO 0032200	08.06.2000	EP 1049474	08.11.2000
		AU 200018336	19.06.2000
WO 9964389	16.12.1999	EP 1084098	21.03.2001
WO 9745407	04.12.1997	JP 2000511540	05.09.2000
		US 5688825	18.11.1997
		AU 3229097	05.01.1998
		EP 1021406	26.07.2000
WO 0128498	26.04.2001	AU 200119692	30.04.2001